

2012 Noviembre, 3(2): 1-2

## **CARACTERÍSTICAS DE LOS MOVIMIENTOS CELULARES EN COLONIAS PROPAGÁNDOSE EN DISTINTOS MEDIOS DE CRECIMIENTO**

Autores: N.E. Muzzio<sup>1</sup>, M.A. Pasquale<sup>1</sup>, P.H. González<sup>2</sup>, A.J. Arvia<sup>1</sup>

Lugar de Trabajo: Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), CONICET, UNLP;  
<sup>2</sup>Cátedra de Patología B, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

E-mail de contacto: vukogon@gmail.com; miguel366@gmail.com

### **Introducción**

Las células interaccionan entre ellas y con el medio circundante a través de mecanismos complejos en los que intervienen estímulos bioquímicos y mecánicos revelando características cooperativas. En las colonias en cultivo los desplazamientos celulares se ven afectados por las interacciones locales que varían con la posición en la colonia y dependen de las condiciones del entorno.

### **Objetivos**

Se intenta describir de las características físicas de los desplazamientos de las células individuales en distintas regiones de colonias con distinto número poblacional y en distintas condiciones de crecimiento. Los medios de cultivos se suplementaron con sustancias que aumentan la viscosidad y estructura del medio para modificar el entorno. Se estudian cambios en la movilidad de las células y su relación con dinámica de crecimiento y fluctuación de la rugosidad de los contornos de las colonias. Estos estudios están dirigidos finalmente al conocimiento del crecimiento y desplazamiento de poblaciones celulares neoplásicas y no neoplásicas in Vitro y la posibilidad de su extrapolación in vivo

### **Materiales y Métodos**

Se utilizaron células HeLa (cáncer de cuello uterino humano) y VERO (Riñón de Mono Verde Africano) en colonias con distintas geometrías y poblaciones celulares ( $n$ ), en medios de crecimientos convencionales y modificados por el agregado de Metil-celulosa (MC) y/o agarosa (AR). La dinámica de crecimiento se determina siguiendo el número de células y la distancia de avance promedio de las colonias. Para el análisis de los movimientos celulares, se emplea un recinto que simula las condiciones de una estufa de cultivos y un microscopio invertido provisto de una cámara digital para seguir la evolución de colonias de células. Se consideran colonias quasi-circulares con distintos valores de  $n$  y colonias quasi-lineales con  $n$  muy grande. Se toman imágenes cada intervalo de tiempo ( $\Delta t$ ) entre 5 y 45 min. Para un gran número de células de cada colonia se determinan las coordenadas, sus velocidades, la direccionalidad de los movimientos, sus desplazamientos cuadráticos medios ( $\text{msd}$ ) y las funciones de correlación espacial y temporal, como así también el efecto del entorno generado por las células vecinas y por la estructura del medio.

2012 Noviembre, 3(2): 1-2

### Resultados

En ausencia de MC o AR, las velocidades celulares son mayores cerca del frente y significativamente menores a partir de una distancia de aproximadamente 400-500 micrones hacia el seno de la colonia. Las células ubicadas dentro de una región comprendida entre el borde y tres diámetros celulares hacia el interior de la colonia muestran histogramas de la componente de la velocidad paralela al frente de la colonia con valor medio cercano a cero, independientemente de la geometría de la colonia. Para la componente perpendicular al frente, el valor medio es positivo y aumenta con  $n$  para las colonias radiales. Siendo en todos los casos mayor para las células Vero que para las HeLa. El mismo comportamiento se observa para la tasa de duplicación celular y la velocidad de propagación del frente de la colonia. Este comportamiento permite explicar la transición en el régimen de crecimiento de las colonias, que va del crecimiento exponencial a velocidad constante de propagación, cuando la dinámica queda gobernada por los procesos que ocurren en una franja externa de la colonia. El agregado de MC o AR en concentraciones de gelificación produce un cambio notable en los valores de velocidad y morfología celular, y en las dimensiones de la franja de mayor actividad. En este caso, el efecto de estos aditivos depende de cada célula utilizada. La acción de los aditivos es mayor cuanto menor es el número de células que forman la colonia. La movilidad de las células depende de su interacción con el entorno desordenado, que cambia en forma aleatoria durante la evolución de la colonia. Los procesos de duplicación, fusión y muerte celular junto con los cambios en la distribución de formas y tamaños de las células afectan el entorno heterogéneo en el cual se desplazan. Las velocidades celulares promedio se correlacionan con la velocidad de propagación del frente, aumentan con  $n$  en las colonias quasi-circulares hasta alcanzar la misma magnitud que en las colonias con frentes inicialmente lineales.

### Conclusión

Los resultados obtenidos son consistentes con la dinámica de las fluctuaciones del frente de la colonia, indicando la importancia de la movilidad de las células en el desarrollo de la rugosidad de los frentes de crecimiento. El efecto observado de los aditivos sobre las células puede tener distinto origen: el aumento en la viscosidad del medio que origina un esfuerzo de corte sobre las células; modificación de la dinámica de expansión y adhesión de la membrana celular; modificación de las condiciones de estabilidad del borde (contorno) de la colonia; cambios en los fenómenos de transporte involucrados en la llegada de nutrientes y de factores de crecimiento, como en la remoción de desechos metabólicos.